

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
31. Januar 2002 (31.01.2002)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
WO 02/08301 A2

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: C08F 8/00

GEHLEN, Arne [DE/DE]; Sonnenstrasse 23, 63743 Aschaffenburg (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP01/07666

(22) Internationales Anmeldedatum:  
5. Juli 2001 (05.07.2001)

(74) Anwalt: FETT, Günter; Acordis AG, Kasinostrasse 19-21, 42103 Wuppertal (DE).

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(81) Bestimmungsstaaten (*national*): JP, US.

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(84) Bestimmungsstaaten (*regional*): europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR).

(30) Angaben zur Priorität:  
100 36 082.3 25. Juli 2000 (25.07.2000) DE

Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): MEMBRANA GMBH [DE/DE]; Öhder Strasse 28, 42289 Wuppertal (DE).

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): LEMKE, Horst, Di-eter [DE/DE]; Dr. Kittel Weg 6, 63785 Obernburg (DE).

US2003/71502

(54) Title: MODIFIED POLYMERIC SHAPED BODY, METHOD FOR PRODUCING THE SAME AND USE THEREOF

(54) Bezeichnung: MODIFIZIERTER POLYMERER FORMKÖRPER, VERFAHREN ZU SEINER HERSTELLUNG UND SEINE VERWENDUNG

(57) Abstract: The invention relates to a modified polymeric shaped body that is producible by reacting diaminoguanidine and/or triaminoguanidine with a polymeric shaped starting body that carries groups R-X, wherein R is an alkylene group having 1 to 3 carbon atoms which is optionally substituted by a hydroxyl group, and X is a group that is substituted during the reaction by diaminoguanidine and/or triaminoguanidine, or with a polymeric shaped starting body that carries groups Y to which diaminoguanidine and/or triaminoguanidine can be added during reaction. The inventive modified polymeric body can be used to remove AGE precursors from blood, plasma or PBS buffer.

(57) Zusammenfassung: Mit einem modifizierten polymeren Formkörper, der herstellbar ist durch Umsetzung von Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin mit einem polymeren Ausgangsformkörper, welcher Reste R-X trägt, wobei R eine gegebenenfalls durch eine Hydroxylgruppe substituierte Alkylengruppe mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen und X eine Gruppe ist, die während der Umsetzung durch Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin substituiert wird oder mit einem polymeren Ausgangsformkörper, welcher Reste Y trägt, an die während der Umsetzung Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin addiert werden, können AGE-Precursor aus Blut, Plasma oder PBS-Puffer entfernt werden.

WO 02/08301 A2

## **Modifizierter polymerer Formkörper, Verfahren zu seiner Herstellung und seine Verwendung**

### **Beschreibung:**

Die Erfindung betrifft einen modifizierten polymeren Formkörper, Verfahren zu seiner Herstellung und seine Verwendung.

Im Blut und im Blutplasma kommen insbesondere bei Nierenkranken und Diabetikern sog. AGE (Advanced Glycation Endproducts) vor. Diese sind Proteine, die durch Modifizierung und Vernetzung mit Abbauprodukten von Zuckern ihre Funktion verloren haben. Die AGE sind Ursache für verschiedene Folgeerkrankungen wie Atherosklerose und Amyloidose. Daher ist vielfach versucht worden, die AGE aus dem Blut oder Plasma zu entfernen.

Durch übliche Blutbehandlungsverfahren wie High-Flux Dialyse, Low-Flux Dialyse oder Hämodiafiltration lässt sich die AGE-Konzentration nicht wesentlich senken.

Im Stand der Technik sind verschiedene Ansätze zur Entfernung von AGE vorgeschlagen worden.

Im International Journal of Artificial Organs (1993), Band 16, Seiten 823-829 wird eine Adsorbersäule beschrieben, die mit hydrophobierten Cellulosekugeln gefüllt ist.

Damit wird zwar die Konzentration von  $\beta$ -2-Mikroglobulin und somit auch die Konzentration von AGE-modifiziertem  $\beta$ -2-Mikroglobulin verringert, jedoch werden gleichzeitig Proteine entfernt, die nicht entfernt werden sollen, wie z.B. RBP, Prolactin, C-PTH, HS-PTH und WBC.

Die US 5 891 341 beschreibt einen aus 17-18 Aminosäuren bestehenden durch Cystein geknüpften Ring, der auf einer Dialysemembran immobilisiert ist. Damit lassen sich zwar verschiedene AGE während einer Dialyse aus dem Blut entfernen. Jedoch werden nur die im Blut gelösten AGE entfernt. Bereits abgelagerte AGE werden durch diese Behandlung nicht erfasst. Außerdem ist die Handhabung einer solchen proteinmodifizierten Membran erheblich erschwert, da sie nicht sterilisiert werden kann. Zudem wird die AGE-Bildung als solche nicht unterbunden.

Die US 5 128 360 offenbart, dass Verbindungen mit aktivem Stickstoff, wie z.B. Aminoguanidin,  $\alpha$ -Hydrazinohistidin und Lysin oder deren Gemische Mittel zur Inhibierung der AGE-Bildung darstellen. Gemäß US 5 128 360 scheinen diese Verbindungen mit frühen Glycosilierungsprodukten zu reagieren, wodurch diese an der AGE-Bildung gehindert werden. Die Verbindungen werden als Medikament verabreicht und kommen somit zwangsläufig mit dem Gewebe in Kontakt.

Die Zeitschrift Endocrinology and Metabolism (1996), Band 3, Seiten 149-166 offenbart, dass Aminoguanidin  $\alpha$ -Oxyaldehyde wie z.B. Glyoxal, Methylglyoxal und 3-Deoxyglycoson, d.h. AGE-Precursor, abfängt und dadurch die AGE-Bildung verhindert. Jedoch führt Aminoguanidin im Kontakt mit dem Gewebe zu außerordentlich unerwünschten Nebenwirkungen in Gestalt der Unterdrückung der NO-Synthase.

Somit stellt sich die vorliegende Erfindung die Aufgabe, ein Erzeugnis und ein Verfahren zu seiner Herstellung zur Verfügung zu stellen, womit AGE-Precursor ohne

unerwünschte Nebenwirkungen aus Blut oder Plasma entfernt werden können, und womit die Bildung von AGE unterdrückt werden kann.

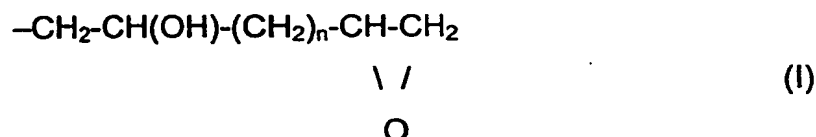
Diese Aufgabe wird zum einen durch einen modifizierten polymeren Formkörper gelöst, der herstellbar ist durch Umsetzung von Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin mit einem polymeren Ausgangsformkörper, welcher Reste R-X trägt, wobei R eine gegebenenfalls durch eine Hydroxylgruppe substituierte Alkylengruppe mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen und X eine Gruppe ist, die während der Umsetzung durch Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin substituiert wird oder mit einem polymeren Ausgangsformkörper, welcher Reste Y trägt, an die während der Umsetzung Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin addiert werden.

Im erfindungsgemäßen modifizierten polymeren Formkörper sind Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin durch Substitutions- bzw. Additionsreaktionen kovalent an den polymeren Ausgangsformkörper gebunden, so dass der erfindungsgemäß modifizierte polymere Formkörper mit Diaminoguanidin- und/oder Triaminoguanidin-Liganden versehen ist. Durch die kovalente Bindung ist sichergestellt, dass sich beim Kontakt des erfindungsgemäßen modifizierten polymeren Formkörpers mit Blut oder Plasma keinerlei Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin löst und in Kontakt mit dem Gewebe kommt, wenn das Blut oder das Plasma in den Körper des Patienten eingeleitet wird. Überraschenderweise zeigen die Diaminoguanidin- und die Triaminoguanidin-Liganden eine hohe Reaktivität mit AGE-Precursern, weshalb diese schnell aus Blut oder Plasma entfernt werden können, wodurch sich die Bildung der AGE merklich unterdrücken lässt.

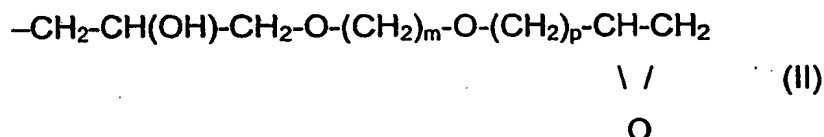
Als Reste R-X, welche der erfindungsgemäße polymere Ausgangsformkörper trägt, sind grundsätzlich alle R-X geeignet, mit denen Diaminoguanidin oder Triaminoguanidin eine nucleophile Substitutionsreaktion eingehen können, wobei als Reste R-X die Halomethylgruppen  $-\text{CH}_2\text{-Cl}$ ,  $-\text{CH}_2\text{-Br}$ ,  $-\text{CH}_2\text{-I}$  oder  $-\text{CH}_2\text{-CH(OH)-CH}_2\text{-Cl}$  be-

vorzugt werden, weil mit diesen Resten R-X die nucleophile Substitutionsreaktion schnell abläuft.

Als Reste Y, welche der erfindungsgemäße polymere Ausgangsformkörper trägt, sind grundsätzlich alle Reste Y geeignet, an die Diaminoguanidin oder Triaminoguanidin addiert werden können, wobei als Reste Y Epoxide der Formel



mit  $n = 1$  bis 10 oder Epoxide der Formel



mit  $m = 1$  bis 4 und  $p = 1$  bis 3 bevorzugt werden, weil mit diesen Resten Y die Addition schnell abläuft.

In Kontakt mit AGE-Precursor haltigem Blut oder Plasma reagieren die Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin-Liganden des modifizierten polymeren Formkörpers mit den AGE-Precursoren unter Ausbildung chemischer Bindungen, sodass die AGE-Precursor irreversibel aus dem Blut oder Plasma entfernt werden. Beispielsweise reagieren die  $\alpha,\beta$ -Dicarbonylgruppen der AGE-Precursor Glyoxal, Methylglyoxal und 3-Deoxyglycosen mit den Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin-Liganden unter Ausbildung von 1,2,4-Triazinen. Die Reaktion ist wegen der hohen Reaktivität der in den Liganden vorhandenen Hydrazin-Gruppen sehr schnell und bei Raumtemperatur bereits nach etwa 10 bis 15 Minuten beendet.

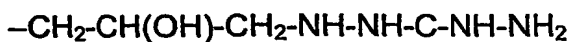
Der erfindungsgemäße modifizierte polymere Formkörper ist z.B. ein partikuläres Material mit vorzugsweise poröser Struktur, womit eine Adsorbersäule gefüllt werden kann, durch die Blut oder Plasma geleitet wird. Über die Korngröße und die Porosität des partikulären Materials kann eine hohe Oberfläche für die Reaktion der AGE-Precurser mit den Diaminoguanidin- und/oder Triaminoguanidin-Liganden zur Verfügung gestellt werden.

In einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung ist der modifizierte polymere Formkörper eine semipermeable Polymermembran mit poröser Struktur, insbesondere eine Flach- oder Hohlfasermembran, wobei Polymermembranen besonders bevorzugt sind, die in Kontakt mit Plasma oder Blut hinreichend biokompatibel sind.

Der polymere Ausgangsformkörper, aus welcher der erfindungsgemäße modifizierte polymere Formkörper herstellbar ist, kann ein Biopolymer sein, z.B. Cellulose oder ein cellulosisches Polymer. Jedoch besteht der polymere Ausgangsformkörper vorzugsweise aus einem synthetischen Polymer, weil dessen chemisches Reaktionsverhalten leichter kontrollierbar ist als das Reaktionsverhalten beispielsweise von Cellulose.

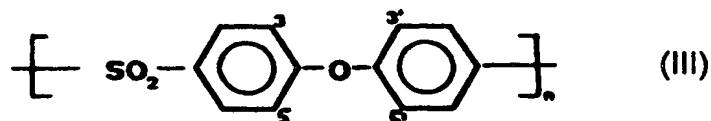
Als synthetisches Polymer wird ein Polyamid besonders bevorzugt. Bestens geeignet sind Polyamid 4,6, Polyamid 6,6 oder Polyamid 6.

Ein besonders bevorzugter modifizierter polymerer Formkörper der vorliegenden Erfindung ist aus einem polymeren Ausgangsformkörper herstellbar, der aus einem Polyamid besteht, wobei an die Aminoendgruppen des Polyamids



gebunden ist.

Des weiteren wird als polymerer Ausgangsformkörper ein Sulfongruppen enthalten-  
des Polymer bevorzugt, wie z.B. Polysulfon, Polyethersulfon oder Polyarylethersul-  
fon. Besonders bevorzugt ist Polyethersulfon, d.h. ein Polymer mit der in der Formel  
(III) dargestellten Wiederholungseinheit.



Derartige Polyethersulfone sind z.B. unter dem Markennamen Ultrason E® (BASF)  
kommerziell erhältlich. Ein solches handelsübliches Polyethersulfon ist z.B. Ultrason  
E 6020 P mit einem durch Lichtstreuung bestimmten mittleren Molekulargewicht  $M_w$   
von etwa 58 000.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung be-  
steht der erfindungsgemäße Formkörper aus einem Polyethersulfon, wobei an einer  
oder mehreren der Positionen 3, 3', 5 und 5' des Polyethersulfons



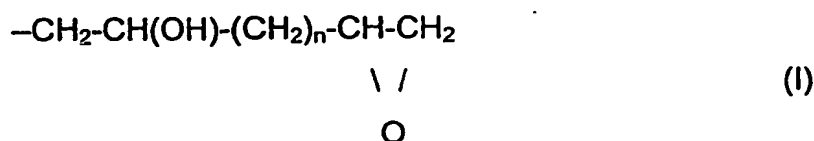
gebunden ist.

Die Aufgabe wird des Weiteren gelöst durch ein Verfahren zur Herstellung eines mo-  
difizierten polymeren Formkörpers umfassend die Schritte

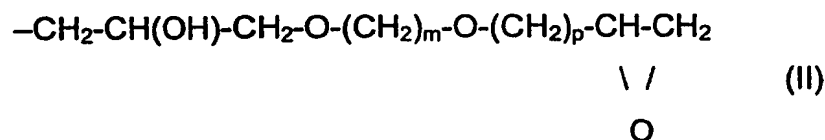
a) Einführen von Resten R-X, wobei R eine gegebenenfalls durch eine Hydroxylgrup-  
pe substituierte Alkylengruppe mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen und X ein Halogenatom  
ist, in ein Polymer und Herstellen eines polymeren Ausgangsformkörpers aus dem  
die Reste R-X enthaltenden Polymer oder Einführen der Reste R-X mit der vorste-  
hend genannten Bedeutung in einen polymeren Ausgangsformkörper oder Einführen  
eines Restes Y, an den Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin addiert werden  
kann, in einen polymeren Ausgangsformkörper und

b) Umsetzen des die Reste R-X oder den Rest Y enthaltenden polymeren Ausgangsformkörpers mit Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin, um so den modifizierten polymeren Formkörper zu erhalten.

Bevorzugt wird als Rest Y ein Epoxid der Formel



mit  $n = 1$  bis 10 oder ein Epoxid der Formel



mit  $m = 1$  bis 4 und  $p = 1$  bis 3 eingeführt.

Die Umsetzung des polymeren Ausgangsformkörpers mit Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin resultiert in einem modifizierten polymeren Formkörper, der an seiner Oberfläche Diaminoguanidin- und/oder Triaminoguanidin-Liganden trägt. Ist der polymere Ausgangsformkörper ein nichtporöses Material, dann ist nur die äußere Oberfläche mit Liganden versehen. Ist der polymere Ausgangsformkörper hingegen ein poröses Material, vorzugsweise ein mikroporöses Material, steht nicht nur die äußere Oberfläche sondern auch die durch die Poren gebildete innere Oberfläche zur Verfügung. Auf diese Weise entsteht eine hohe Dichte an Liganden, wodurch eine hohe Kapazität für die Bindung von AGE-Precursoren bereitgestellt wird.



In einer bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens wird als polymerer Ausgangsformkörper eine semipermeable Polymermembran mit poröser Struktur hergestellt bzw. eingesetzt.

Im Rahmen des erfindungsgemäßen Verfahrens ist als Polymer grundsätzlich jedes biokompatible Polymer geeignet, in das die Reste R-X eingeführt werden können. Als polymerer Ausgangsformkörper ist erfindungsgemäß jeder biokompatible polymere Ausgangsformkörper geeignet, in den die Reste R-X oder Y eingeführt werden können. Z.B. kann das Polymer bzw. der polymere Ausgangsformkörper aus einem Biopolymeren, etwa aus Cellulose oder aus einem cellulosischen Polymer bestehen.

Jedoch wird vorzugsweise im erfindungsgemäßen Verfahren in Schritt a) als Polymer ein synthetisches Polymer bzw. als polymerer Ausgangsformkörper ein Ausgangsformkörper aus einem synthetischen Polymer eingesetzt, weil das chemische Reaktionsverhalten synthetischer Polymerer leichter kontrollierbar ist als das Reaktionsverhalten beispielsweise von Cellulose.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens ist das synthetische Polymer Polyethersulfon, d.h. ein Polymer mit der in der Formel (II) dargestellten Wiederholungseinheit. Ein solches Polyethersulfon ist z.B. Ultrason E 6020 P (BASF) mit einem durch Lichtstreuung bestimmten mittleren Molekulargewicht  $M_w$  von etwa 58 000. Weitere bevorzugte synthetische Polymere sind andere, Sulfongruppen enthaltende Polymere, wie z.B. Polysulfon oder Polyarylethersulfon.

Insbesondere wird eine Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens bevorzugt, bei der in Schritt a) Polyethersulfon chlor-, brom- oder iodmethyliert und daraus ein chlor-, brom- oder iodmethylierter Polyethersulfon-Ausgangsformkörper hergestellt wird, der in Schritt b) mit Diaminoguanidin umgesetzt wird. Ein besonders ge-

eignetes Verfahren zur Chlor-, Brom- oder Iodmethylierung von Polyethersulfon wird z.B. in der DE-A 100 12 332 beschrieben.

Ganz besonders bevorzugt wird in Schritt a) das Polyethersulfon chlor-, brom- oder iodmethyliert und daraus eine chlor-, brom- oder iodmethylierte Polyethersulfon-Membran hergestellt, die in Schritt b) mit Diaminoguanidin umgesetzt wird.

In einer weiteren besonders bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens ist das synthetische Polymer ein Polyamid. Bestens geeignet sind Polyamid 4,6, Polyamid 6,6 oder Polyamid 6.

Insbesondere wird eine Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens bevorzugt, bei der in Schritt a) ein Ausgangsformkörper aus Polyamid eingesetzt und mit Epichlorhydrin umgesetzt wird und nachfolgend in Schritt b) mit Diaminoguanidin umgesetzt wird.

Ganz besonders bevorzugt wird in Schritt a) als Polyamid-Ausgangsformkörper eine Polyamid-Membran mit Epichlorhydrin und in Schritt b) mit Diaminoguanidin umgesetzt. Als Polyamid-Membran bestens geeignet ist eine Polyamid 6-Membran, wie sie unter der Typenbezeichnung „micro PA 386c“ von Membrana GmbH erhältlich ist.

Für den Schritt b) des erfindungsgemäßen Verfahrens sind grundsätzlich alle Reaktionsbedingungen geeignet, unter denen die nucleophile aliphatische Substitution des Halogens X in R-X durch Diaminoguanidin oder Triaminoguanidin bzw. die Umsetzung des Restes Y mit Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin möglich ist. Besonders bevorzugt ist eine Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens, worin die Umsetzung in Schritt b) in einer wässrigen alkalischen Lösung stattfindet, weil unter diesen Bedingungen Diaminoguanidin und Triaminoguanidin die höchste Nucleophilie aufweisen.

Der Temperaturbereich für die Umsetzung in Schritt b) reicht von einer Temperatur oberhalb des Gefrierpunkts bis unterhalb des Siedepunkts der Aminoguanidin- und/oder Triaminoguanidin enthaltenden Lösung. In einer besonders bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens findet die Umsetzung in Schritt b) in einem Temperaturbereich von Raumtemperatur bis etwa 80 °C statt. Z.B. wird, wenn eine Reaktionszeit von 1 h angestrebt ist, für die Umsetzung einer mit Epichlorhydrin umgesetzten Polyamidmembran mit Diaminoguanidin eine Temperatur von 80 °C benötigt, während für die Umsetzung einer Polyethersulfonmembran, die aus chlormethyliertem Polyethersulfon hergestellt wurde, Raumtemperatur genügt.

Die erfindungsgemäßen modifizierten Formkörper lassen sich vorteilhaft in Verfahren einsetzen, bei denen AGE-Precursor aus Blut oder Plasma entfernt werden. AGE-Precursor sind reaktive Carbonylverbindungen. Daher lassen sich die erfindungsgemäßen modifizierten Formkörper erfolgreich zur Entfernung von reaktiven Carbonylverbindungen aus Blut, Plasma oder aus PBS-Puffer (8 g/l NaCl, 2,9 g/l  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  und 0,2 g/l  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , pH=7,4) verwenden.

Bevorzugt werden die erfindungsgemäßen modifizierten polymeren Formkörper zur Entfernung von Dicarbonylverbindungen, insbesondere von Glyoxal, Methylglyoxal, 3-Deoxyglycoson, Malondialdehyd, Glyceroldialdehyd und 2-Hydroxypropanal verwendet, die einzeln oder im Gemisch vorliegen.

Vorzugsweise wird der erfindungsgemäße modifizierte polymere Formkörper als modifizierte polymere Membran in einem geeigneten Gehäuse verwendet. Dabei ist die Membran z.B. eine Hämodialysemembran, so dass die AGE-Precursor während einer Hämodialyse chemisch an die Diaminoguanidin- oder Triaminoguanidin-Liganden gebunden und dadurch aus dem Blut entfernt werden. Des weiteren kann die modifizierte polymere Membran eine mikroporöse Membran sein, die in einem entsprechenden Modul angeordnet ist, wobei das zu behandelnde Blut oder Plasma im Dead-end Modus oder im Cross-flow Modus durch die Membran geleitet werden

kann. Ein solcher Modul kann als eigenständige Einheit oder in Kombination mit z.B. einem Hemodialysator eingesetzt werden.

Die mit dem erfindungsgemäßen modifizierten Formkörper mögliche Abtrennung von AGE-Precursern aus Blut, Plasma oder PBS-Puffer beruht auf einer chemischen Reaktion der AGE-Precurser mit den Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin-Liganden und ist somit unabhängig von der Größe der AGE-Precurser. Daher können mit dem erfindungsgemäßen modifizierten Formkörper große AGE-Precurser, die durch Dialyse nicht entfernbar sind, aus Plasma oder Blut entfernt werden.

Die Erfindung wird anhand der folgenden Beispiele näher erläutert.

**Beispiel 1: Modifizierte Polymermembran hergestellt aus einer Polyamid-Kapillarmembran, Epichlorhydrin und Diaminoguanidin**

2 g einer Polyamid-Kapillarmembran („micro PA 386 c“, Membrana GmbH) werden in ein von unten anströmbares Rohr eingebracht. Zur Einführung der Chlor-Kohlenstoff Bindung in die Membran wird Epichlorhydrin als 5 Gew.-%ige Lösung in einem Lösungsmittel eingesetzt, das aus Wasser und Isopropanol in gleichen Gewichtsteilen besteht. Diaminoguanidin (DAG) wird als 5 Gew.-%ige wässrige Lösung eingesetzt, die eine zu DAG äquimolare Menge an NaOH enthält. Die Modifizierung der Polyamid-Kapillarmembran wird nach dem folgenden Agens/Zeit/Temperatur/Volumen – Schema durchgeführt. Nach jedem der in diesem Schema genannten Schritte wird das jeweilige Medium abgegossen.

Agens	Zeit [min]	Temperatur [°C]	Volumen [ml]
H <sub>2</sub> O/i-Propanol zum Benetzen der Membran	10	50	200
H <sub>2</sub> O zum Waschen der Membran	10	50	200
H <sub>2</sub> O zum Waschen der Membran	10	100	200
Epichlorhydrin/ H <sub>2</sub> O/i-Propanol –Lösung zur Epoxidierung der Aminoendgruppen der Membran und Einführung der Cl-C Bindung	60	50	200
H <sub>2</sub> O zum Waschen der Membran	10	50	200
DAG/NaOH/H <sub>2</sub> O-Lösung zur Bindung von DAG an die Membran	60	80	100
H <sub>2</sub> O zum Waschen der modifizierten Membran	3 x (15	50	300)

Die modifizierte Membran wird bis zur Gewichtskonstanz an der Luft getrocknet. Eine sterile Lagerung ist z.B. unter 70 %igem Ethanol möglich. Zum Nachweis, dass das DAG kovalent an die Membran gebunden ist, wird der Gehalt an -NH<sub>2</sub>- Gruppen des Diaminoguanidins durch die Ninhydrinreaktion bestimmt.

### **Beispiel 2: Modifizierte Polymermembran hergestellt aus einer chlormethylierten Polyethersulfon-Flachmembran und Diaminoguanidin**

Polyethersulfon wurde, wie in der DE-A 100 12 332 beschrieben, mit einem Substitutionsgrad von 0,03 chlormethyliert. Dabei bedeutet der Substitutionsgrad den Quotienten aus der Gesamtzahl der Chlormethylgruppen im chlormethylierten Polyethersulfon und der Gesamtzahl der Wiederholungseinheiten des Polyethersulfons.

Eine Lösung aus 8 g des chlormethylierten Polyethersulfons, 36 g Dimethylacetamid und 9,6 g Polyethylenglykol (PEG 200) wird zu einem Film mit einer Naßfilmdicke

von 75 µm gerakelt, an der Oberfläche mit Wasserdampf koaguliert, in Wasser gefällt, gewaschen und getrocknet. Die chlormethylierte Polyethersulfon-Flachmembran wird in eine Schale gelegt, die auf einem Schüttelbrett gelagert ist, und nach dem folgenden Agens/Zeit/Volumen – Schema mit Diaminoguanidin (DAG) bei Raumtemperatur umgesetzt. Das DAG wird als wässrige Lösung von 5 Gew.-%ige DAG und der äquimolaren Menge an NaOH eingesetzt. Nach jedem der im folgenden Schema genannten Schritte wird das jeweilige Medium abgegossen.

Agens	Zeit [min]	Volumen [ml]
H <sub>2</sub> O/i-Propanol zum Benetzen der Membran	10	100
H <sub>2</sub> O zum Waschen der Membran	10	100
DAG/NaOH/H <sub>2</sub> O-Lösung zur Bindung von DAG an die Membran	60	100
H <sub>2</sub> O zum Waschen der Membran	3 x [10	200]
Mit HCl bis auf pH = 2 ansäuern		
Mit H <sub>2</sub> O Neutralwaschen der Membran	3 x [10	200]

Die Membran wird an Luft bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

### **Beispiel 3: Hemmung der Pentosidin – Bildung in HD-Plasma mit einer DAG - modifizierten Polymermembran**

Polyethersulfon wurde, wie in der DE-A 100 12 332 beschrieben, mit einem Substitutionsgrad von 0,17 chlormethyliert. Aus dem chlormethylierten Polyethersulfon wurde, wie in Beispiel 2 beschrieben, eine Flachmembran hergestellt und mit DAG umgesetzt.

Die im folgenden beschriebenen 12-tägigen Inkubationen bei 37 °C werden in Eppendorf-Kappen durchgeführt. Die modifizierte Membran wird mit HD-Plasma (Plasma von Hämodialysepatienten vor der Dialyse) inkubiert und danach die Konzentration des AGE's Pentosidin gemessen. Die Fläche der bei diesem Versuch eingesetzten modifizierten Membran wird so bemessen, dass pro ml HD-Plasma 5 µmol DAG vorhanden sind.

Die Pentosidin-Konzentrationen werden wie in Kidney International, Band 55 (1999), Seiten 2487-2492 beschrieben bestimmt. Die Ergebnisse sind im Balkendiagramm von Figur 1 dargestellt, wobei die Pentosidin-Konzentrationen in relativen Einheiten (rE) angegeben sind. Balken 5 von Figur 1 zeigt die Anfangskonzentration an Pentosidin im HD-Plasma, die ca. 6,3 rE beträgt. Balken 3 von Figur 1 zeigt die Pentosidin-Konzentration nach Inkubation des HD-Plasmas. Man erkennt, dass die im HD-Plasma vorhandenen AGE-Precursor zu einem Anstieg des AGE's Pentosidin auf ca. 19,3 rE führen, so dass während der Inkubation ca. 13 rE Pentosidin entstehen. Wie Balken 2 von Figur 1 zeigt, entsteht während der Inkubation der nicht modifizierten Polyethersulfonmembran etwa gleich viel Pentosidin. In Balken 1 von Figur 1 ist die Pentosidin-Konzentration dargestellt, die nach Inkubation mit der modifizierten Membran gemessen wird. Setzt man die ohne Membran entstandenen 13 rE Pentosidin gleich 100 %, bedeuten die bei Verwendung der modifizierten Membran entstandenen 7,4 rE Pentosidin, dass mit der modifizierten Membran nur ca. 57 % des Pentosidins entstanden ist. Somit führte die modifizierte Membran zu einer Unterdrückung der Pentosidin-Bildung um ca. 43 %. Balken 4 zeigt die Pentosidin-Konzentration nach Inkubation des HD-Plasmas mit 5 µmol Aminoguanidin pro ml HD-Plasma. In Anbetracht der eingezeichneten Fehlergrenzen resultiert etwa die gleiche Pentosidin-Konzentration wie mit der modifizierten Polymermembran, so dass bezogen auf die gleiche Zahl reaktiver Gruppen die kovalente Bindung des DAG's im Vergleich zum freien Aminoguanidin nicht zu einer verringerten Hemmung der Pentosidin-Bildung führt.

#### **Beispiel 4: Hemmung der Pentosidin – Bildung in dialysiertem HD-Plasma mit einer DAG - modifizierten Polymermembran**

Beispiel 3 wurde wiederholt mit dem Unterschied, dass ein HD-Plasma verwendet wird, das 3 mal 8 h lang gegen Celluloseregenerat mit einer Ausschlussgrenze von 3500 Dalton dialysiert wurde.

Die Ergebnisse sind im Balkendiagramm von Figur 2 dargestellt. Dessen Balken 4 zeigt die Anfangskonzentration an Pentosidin im HD-Plasma, die ca. 6 rE beträgt. Balken 2 von Figur 1 zeigt die Pentosidin-Konzentration nach Inkubation des HD-Plasmas ohne die modifizierte Membran. Man erkennt, dass die im HD-Plasma vorhandenen AGE-Precursor zu einem Anstieg des AGE's Pentosidin auf ca. 9,6 rE führen, so dass während der Inkubation ca. 3,6 rE Pentosidin entstehen. In Balken 1 von Figur 2 ist die Pentosidin-Konzentration dargestellt, die nach Inkubation mit der modifizierten Membran gemessen wird. Setzt man die ohne Membran entstandenen ca. 3,6 rE Pentosidin gleich 100 %, bedeuten die bei Verwendung der modifizierten Membran entstandenen ca. 2,4 rE Pentosidin, dass mit der modifizierten Membran nur ca. 66 % des Pentosidins entstanden ist. Somit führte die modifizierte Membran zu einer Unterdrückung der Pentosidin-Bildung um ca. 34 %. Balken 3 von Figur 2 zeigt die Pentosidin-Konzentration nach Inkubation des HD-Plasmas mit 5 µmol Aminoguanidin pro ml HD-Plasma. In Anbetracht der eingezeichneten Fehlergrenzen resultiert etwa die gleiche Pentosidin-Konzentration wie mit der modifizierten Polymermembran.

#### **Beispiel 5: Bindung von Methylglyoxal aus PBS-Puffer mit einer DAG - modifizierten Polymermembran**

In Eppendorf-Kappen werden 1 ml PBS-Puffer, pH = 7,4, (Fa. Sigma), der u.a. den AGE-Precursor Methylglyoxal (MGO) in einer Konzentration von 1 mM enthält, mit einer chlormethylierten und mit Diaminoguanidin (DAG) umgesetzten Polyethersul-



fon-Flachmembran gemäß Beispiel 3 kontaktiert. Die Fläche der modifizierten Membran wird so bemessen, dass 1  $\mu\text{mol}$   $\text{NH}_2\text{-NH}$  – Gruppen des DAG's in Kontakt mit dem MGO-haltigen PBS-Puffer stehen.

Nach 4 h auf einem Schüttelbrett bei Raumtemperatur wird die MGO-Konzentration im PBS-Puffer nach folgendem Verfahren bestimmt: 100  $\mu\text{l}$  MGO-haltiger PBS-Puffer, 10  $\mu\text{l}$  2,3-Butandionlösung als interner Standard, 80  $\mu\text{l}$  Perchlorsäure (2M) und 40  $\mu\text{l}$  Ortho-Diaminophenyl-Lösung (1%ig) werden vereint und 1 h in der Dunkelheit bei Raumtemperatur umgesetzt. Dabei reagiert die Dicarbonylverbindung MGO mit dem ortho-Diaminophenyl zum entsprechenden Chinoxalin-Derivat. Der PBS-Puffer enthält zusätzlich die AGE-Precursor Glyoxal und 3-Deoxyglycose (je 1 mM), die mit ortho-Diaminophenyl zu den entsprechenden Chinoxalin-Derivaten umgesetzt werden.

Die entstandenen Chinoxalin-Derivate können durch HPLC aufgetrennt und mit einem UV-Detektor bei 315 nm detektiert werden. Der nach 19,7 Minuten erscheinende Peak ist dem MGO zuzuordnen. Als Säulenmaterial dient „Puresil“ von Fa. Waters (C18, 120 Å, 4,6 x 250 mm). Die Säule wird mit einer Flussrate von 1 ml/min betrieben. Der die derivatisierten AGE-Precursor enthaltende PBS-Puffer wird eingespritzt. Anschließend wird mit den Lösungen A (0,1 % Trifluoressigsäure in Wasser) und B (0,08 % Trifluoressigsäure in 80%iger wässriger Acetonitril-Lösung) das im folgenden beschriebene Konzentrations/Zeit-Programm gefahren.

Zeit [min]	Konzentration von Lösung B (Differenz zu 100 % ist Lösung A)
0	15 %
0 - 25	15 – 28 %, linear ansteigend
25-27	100 %

Die Ergebnisse sind in Figur 3 dargestellt, wobei die MGO-Konzentration in relativen Einheiten (rE) angegeben ist. Die Balken 1-7 von Figur 3 zeigen die MGO-Konzentrationen im PBS-Puffer, der die modifizierte Polymermembran enthielt. Die modifi-

zierten Polymermembranen wurden nach ihrer Herstellung in die HCl-Form gebracht (Balken 1 und 2 von Figur 3), als freie Base eingesetzt (Balken 3 und 4 von Figur 3), in die HCl-Form gebracht und in Wasser gelagert (Balken 5 von Figur 3), in wässriger  $\text{NaN}_3$ -Lösung (Balken 6 von Figur 3) und als freie Base in Wasser gelagert (Balken 7 von Figur 3) und danach mit dem MGO-haltigen PBS-Puffer in Kontakt gebracht. Die Balken 1-7 von Figur 3 zeigen, dass nach der Kontaktzeit von 4 Stunden mit dem AGE-haltigen PBS-Puffer unabhängig von der Form, in der die modifizierte Polymermembran eingesetzt wurde, die MGO-Konzentration im PBS-Puffer mit ca. 5 rE nur etwa ein Sechstel der MGO-Konzentration beträgt, die in den PBS-Puffern gemessen wurden, in denen sich eine lediglich chlormethylierte Polyethersulfon-Membran (Balken 8 in Figur 3) und eine vor dem Versuch trocken gelagerte Polyethersulfon-Membran (Balken 9 in Figur 3) befand. Etwa gleich viel MGO wird im PBS-Puffer ohne Membran gefunden (Balken 10 von Figur 3), während PBS-Puffer, der 1  $\mu\text{mol}$  Aminoguanidin-Hydrochlorid enthielt (Balken 11 von Figur 3) in etwa die MGO-Konzentration aufweist, die in den PBS-Puffern mit den modifizierten Polymermembranen gefunden werden.

#### **Beispiel 6: Bindung von AGE-Precursern aus HD-Plasma mit einer DAG - modifizierten Polymermembran**

Beispiel 5 wurde wiederholt mit dem Unterschied, dass statt PBS-Puffer HD-Plasma eingesetzt wurde, das u.a. die AGE-Precursor Methylglyoxal (MGO), Glyoxal (GO) und eine reaktive Dicarbonylverbindung enthält, deren Chinoxalin-Derivat mit der in Beispiel 5 beschriebenen HPLC-Methode nach 14,3 Minuten detektiert wird. Die Fläche der modifizierten Membran wird so bemessen, dass 10  $\mu\text{mol}$   $\text{NH}_2\text{-NH}$  - Gruppen des DAG's in Kontakt mit dem HD-Plasma stehen.

Zur Bestimmung der AGE-Precursor müssen zuerst die Proteine aus dem HD-Plasma entfernt werden. Dazu werden 200  $\mu\text{l}$  des HD-Plasmas in einer Eppendorfkappe mit 200  $\mu\text{l}$  Wasser (reinst) verdünnt. Dann werden 100  $\mu\text{l}$  2M  $\text{HClO}_4$  zuge-

mischt, wodurch die Proteine präzipitieren. Zum Niederschlagen des Präzipitats wird 3 min lang bei 12000 U/min und anschließend durch einen 0,45 µm Filter 3 min lang bei 5000 U/min zentrifugiert. Nach Zugabe von 5 µl 2,3-Butandion als interner Standard und 20 µl einer 1%igen ortho-Phenylendiaminlösung wird 1 h lang bei Raumtemperatur reagiert, wodurch die AGE-Precursor in ihre Chinoxalin-Derivate überführt werden. Deren Auftrennung durch HPLC erfolgt wie in Beispiel 5 beschrieben.

Die Ergebnisse für MGO sind in Figur 4 dargestellt. Balken 2 von Figur 4 zeigt die MGO-Konzentration in relativen Einheiten (rE), die nach 4 Stunden Kontaktzeit zwischen der modifizierten Polymermembran und dem HD-Plasma gemessen wurde. Im Vergleich zur MGO-Konzentration, die im HD-Plasma ohne Membran (Balken 6 von Figur 4) gemessen wurde, beträgt die MGO-Konzentration nach dem 4-stündigen Kontakt mit der modifizierten Polymermembran nur ca. 42 %. Die Balken 3, 4 und 5 von Figur 4 zeigen die MGO-Konzentrationen, die nach 4 Stunden Kontaktzeit mit HD-Plasma erhalten wurden, das 20, 5 und 1 µmol Aminoguanidin-Hydrochlorid pro ml HD-Plasma enthält. Balken 1 von Figur 4 zeigt die MGO-Konzentration in HD-Plasma, das 3 mal 8 h lang gegen Celluloseregenerat mit einer Ausschlussgrenze von 3500 Dalton dialysiert wurde. Angesichts seiner Größe sollte MGO dadurch vollständig entfernt sein, jedoch sind nach der Dialyse noch ca. 1,5 rE an MGO im HD-Plasma vorhanden.

Die Ergebnisse für die in der HPLC nach 14,3 Minuten detektierte reaktive Dicarbonylverbindung sind in Figur 5 dargestellt. Balken 2 von Figur 5 zeigt die Konzentration des reaktiven Dicarbonyls in relativen Einheiten (rE), die nach 4 Stunden Kontaktzeit zwischen der modifizierten Polymermembran und dem HD-Plasma gemessen wurde. Im Vergleich zur Konzentration des reaktiven Dicarbonyls, die im HD-Plasma ohne die modifizierte Polymermembran gemessen wurde (Balken 6 von Figur 5), beträgt die Konzentration des reaktiven Dicarbonyls nur ca. 7 %. Die Balken 3, 4 und 5 von Figur 5 zeigen die Restkonzentrationen des reaktiven Dicarbonyls in HD-Plasma, die nach 4 Stunden Kontaktzeit mit einem HD-Plasma erhalten wurden, dem 20, 5 und 1 µmol Aminoguanidin-Hydrochlorid pro ml HD-Plasma zugesetzt

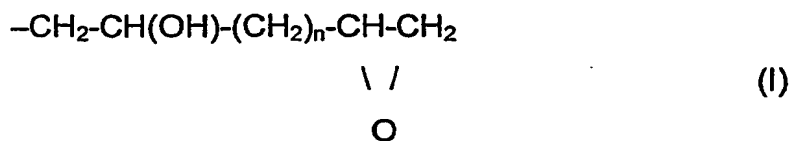
worden waren. Balken 1 von Figur 5 zeigt die Konzentration des reaktiven Dicarbons, das zuvor 3 mal 8 h gegen Celluloseregenerat mit einer Ausschlussgrenze von 3500 Dalton dialysiert wurde. Der Vergleich von Balken 1 mit Balken 2 von Figur 5 zeigt, dass durch die modifizierte Polymermembran das im HD-Plasma vorkommende reaktive Dicarbonyl wesentlich effizienter entfernt wird als durch die Dialyse.

Die Ergebnisse für GO sind in Figur 6 dargestellt. Balken 2 von Figur 6 zeigt die GO-Konzentration in relativen Einheiten (rE), die nach 4 Stunden Kontaktzeit zwischen der modifizierten Polymermembran und dem HD-Plasma gemessen wurde. Im Vergleich zur GO-Konzentrationen, die im HD-Plasma ohne die modifizierte Polymermembran gemessen wurde (Balken 6 von Figur 6), beträgt die GO-Konzentration nur ca. 37 %. Die Balken 3, 4 und 5 von Figur 6 zeigen die GO-Konzentrationen, die nach 4 Stunden Kontaktzeit mit HD-Plasma erhalten wurden, das 20, 5 und 1  $\mu\text{mol}$  Aminoguanidin-Hydrochlorid pro ml HD-Plasma enthielt. Balken 1 von Figur 6 zeigt die GO-Konzentration in HD-Plasma, das zuvor 3 mal 8 h gegen Celluloseregenerat mit einer Ausschlussgrenze von 3500 Dalton dialysiert wurde. Durch die Dialyse wurde das kleine GO-Molekül vollständig entfernt.

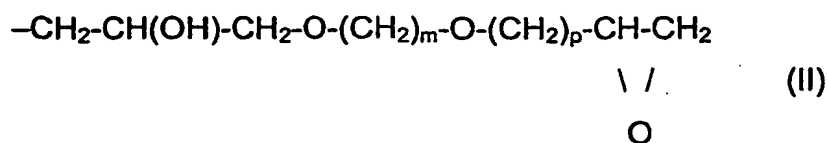
## Modifizierter polymerer Formkörper, Verfahren zu seiner Herstellung und seine Verwendung

### Patentansprüche:

1. Modifizierter polymerer Formkörper herstellbar durch Umsetzung von Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin mit einem polymeren Ausgangsformkörper, welcher Reste R-X trägt, wobei R eine gegebenenfalls durch eine Hydroxylgruppe substituierte Alkylengruppe mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen und X eine Gruppe ist, die während der Umsetzung durch Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin substituiert wird oder mit einem polymeren Ausgangsformkörper, welcher Reste Y trägt, an die während der Umsetzung Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin addiert werden.
2. Modifizierter polymerer Formkörper nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Reste R-X die Halomethylgruppen  $-\text{CH}_2\text{Cl}$ ,  $-\text{CH}_2\text{Br}$ ,  $-\text{CH}_2\text{I}$  oder  $-\text{CH}_2\text{-CH(OH)-CH}_2\text{Cl}$  sind.
3. Modifizierter polymerer Formkörper nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Reste Y Epoxide der Formel

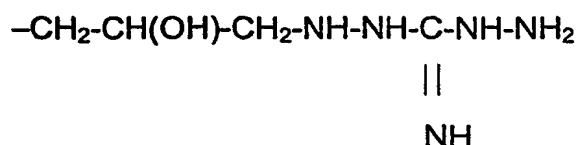


mit  $n = 1$  bis 10 oder Epoxide der Formel



mit  $m = 1$  bis 4 und  $p = 1$  bis 3 sind.

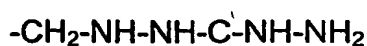
4. **Modifizierter polymerer Formkörper nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass er eine Polymermembran ist.**
5. **Modifizierter polymerer Formkörper nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass der polymere Ausgangsformkörper aus einem synthetischen Polymer besteht.**
6. **Modifizierter polymerer Formkörper nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass das synthetische Polymer ein Polyamid ist.**
7. **Modifizierter polymerer Formkörper nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass der polymere Ausgangsformkörper ein Polyamid ist und an die Aminoendgruppen**



**gebunden ist.**

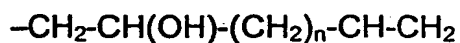
8. Modifizierter polymerer Formkörper nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass der polymere Ausgangsformkörper ein Polyethersulfon ist.

9. Modifizierter polymerer Formkörper nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass an einer oder mehreren der Positionen 3, 3', 5 und 5' des Polyethersulfons



gebunden ist.

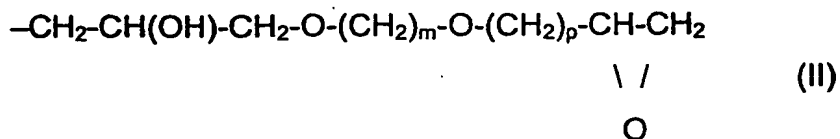
10. Verfahren zur Herstellung eines modifizierten polymeren Formkörpers umfassend die Schritte
- a) Einführen von Resten R-X, wobei R eine gegebenenfalls durch eine Hydroxylgruppe substituierte Alkylengruppe mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen und X ein Halogenatom ist, in ein Polymer und Herstellen eines polymeren Ausgangsformkörpers aus dem die Reste R-X enthaltenden Polymer oder Einführen der Reste R-X mit der vorstehend genannten Bedeutung in einen polymeren Ausgangsformkörper oder Einführen eines Restes Y, an den Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin addiert werden kann, in einen polymeren Ausgangsformkörper und
- b) Umsetzen des die Reste R-X oder den Rest Y enthaltenden polymeren Ausgangsformkörpers mit Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin, um so den modifizierten polymeren Formkörper zu erhalten.
11. Verfahren nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, dass der Rest Y ein Epoxid der Formel



(I)



mit n = 1 bis 10 oder ein Epoxid der Formel



mit  $m = 1$  bis 4 und  $p = 1$  bis 3 ist.

12. Verfahren nach Anspruch 10 oder 11, dadurch gekennzeichnet, dass als polymerer Ausgangsformkörper eine semipermeable Polymermembran mit poröser Struktur hergestellt bzw. eingesetzt wird.
13. Verfahren nach Anspruch 10 oder 11, dadurch gekennzeichnet, dass in Schritt a) als Polymer ein synthetisches Polymer bzw. als polymerer Ausgangsformkörper ein Ausgangsformkörper aus einem synthetischen Polymeren eingesetzt wird.
14. Verfahren nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, dass in Schritt a) das synthetische Polymer ein Polyethersulfon ist.
15. Verfahren nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, dass in Schritt a) das Polyethersulfon chlor-, brom- oder iodmethyliert und daraus ein chlor-, brom- oder iodmethylierter Polyethersulfon-Ausgangsformkörper hergestellt wird, der in Schritt b) mit Diaminoguanidin umgesetzt wird.
16. Verfahren nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, dass das synthetische Polymer ein Polyamid ist.
17. Verfahren nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, dass in Schritt a) ein Ausgangsformkörper aus Polyamid eingesetzt und mit Epichlorhydrin umgesetzt wird und nachfolgend in Schritt b) mit Diaminoguanidin umgesetzt wird.



18. Verfahren nach einem der Ansprüche 10 bis 17, dadurch gekennzeichnet, dass die Umsetzung in Schritt b) in einer wässrigen alkalischen Lösung stattfindet.
19. Verfahren nach einem der Ansprüche 10 bis 18, dadurch gekennzeichnet, dass die Umsetzung in Schritt b) in einem Temperaturbereich von Raumtemperatur bis etwa 80 °C stattfindet.
20. Verwendung des modifizierten polymeren Formkörpers nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 19 zur Entfernung von reaktiven Carbonylverbindungen aus Blut, Plasma oder PBS-Puffer.
21. Verwendung nach Anspruch 20 dadurch gekennzeichnet, dass die reaktiven Carbonylverbindungen Dicarbonylverbindungen sind.
22. Verwendung nach Anspruch 21, dadurch gekennzeichnet, dass die Dicarbonylverbindungen Glyoxal, Methylglyoxal, 3-Deoxyglycoson, Malondialdehyd, Glycoldialdehyd und 2-Hydroxypropanal sind, die einzeln oder im Gemisch vorliegen.
23. Verwendung nach einem oder mehreren der Ansprüche 20 bis 22, dadurch gekennzeichnet, dass der modifizierte polymere Formkörper eine modifizierte polymere Membran ist.

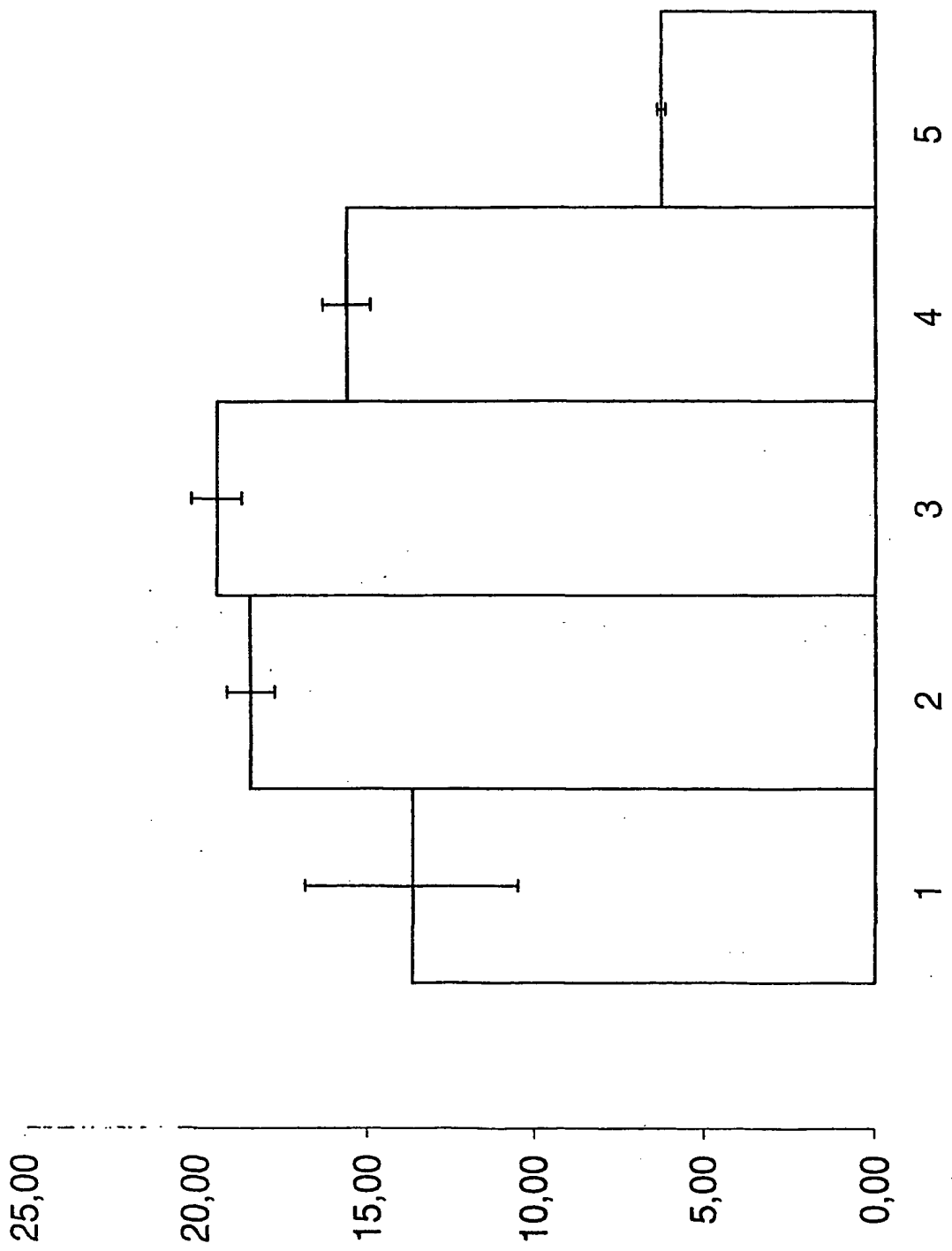


Fig 1

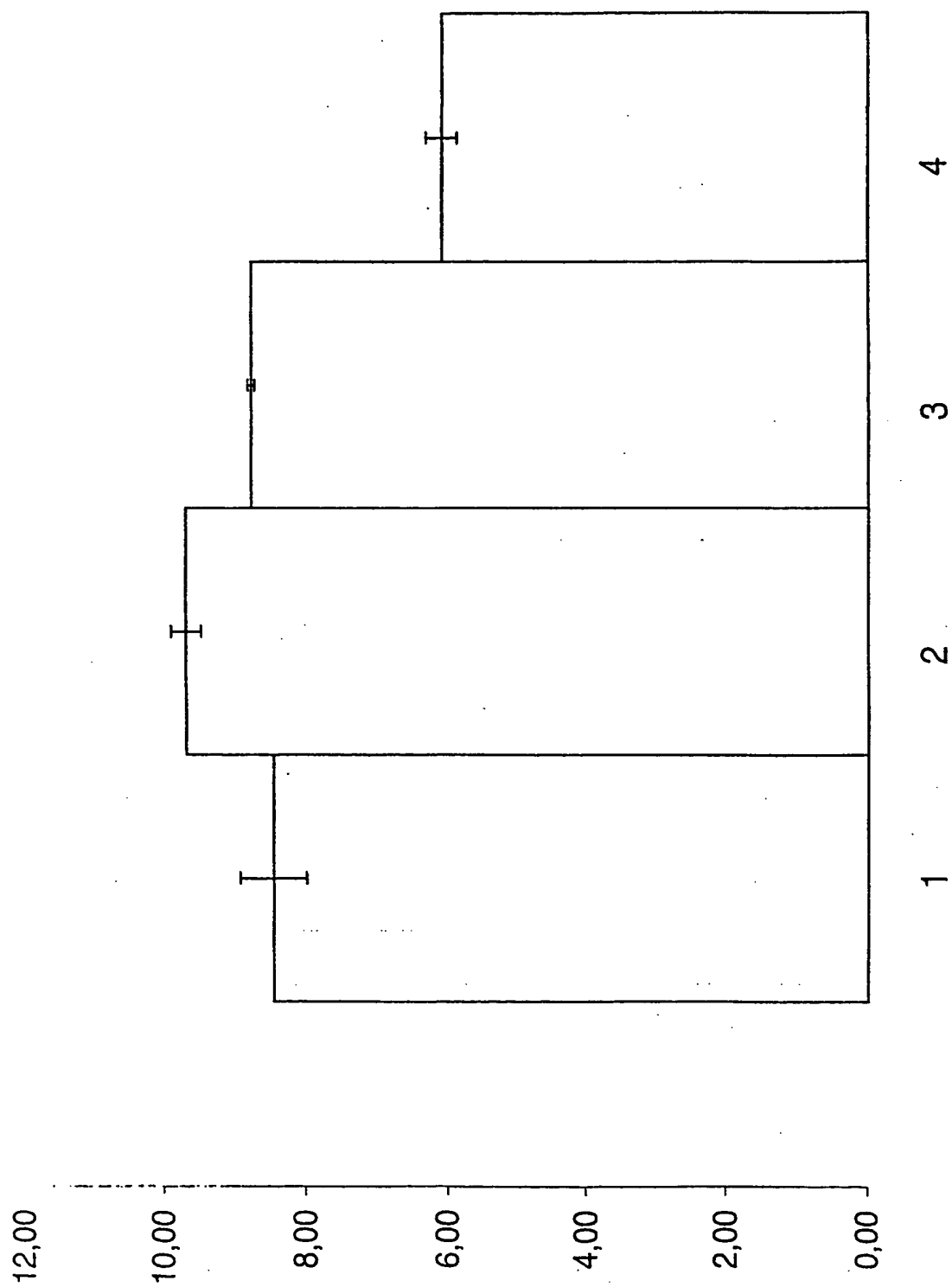


Fig 2

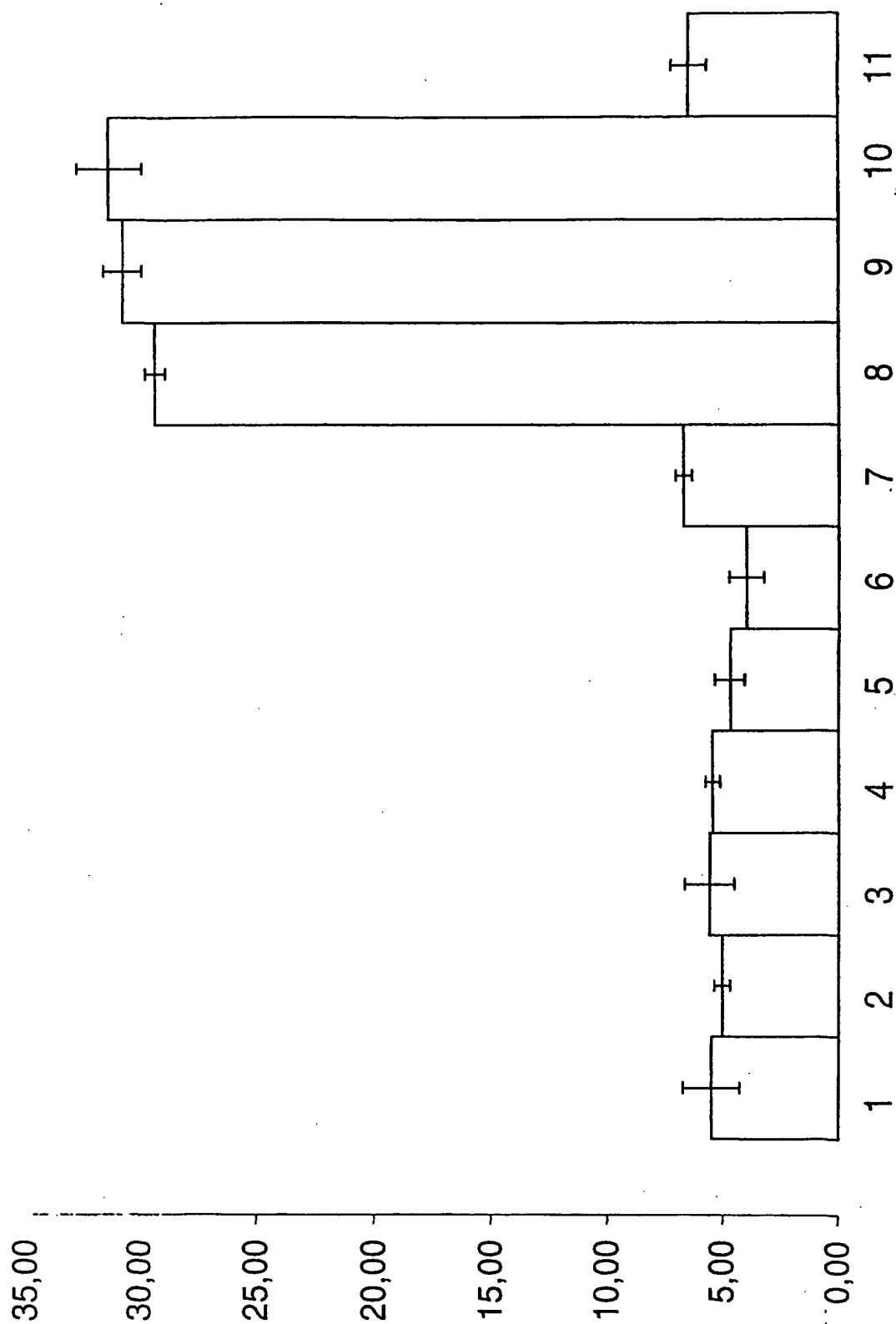


Fig 3

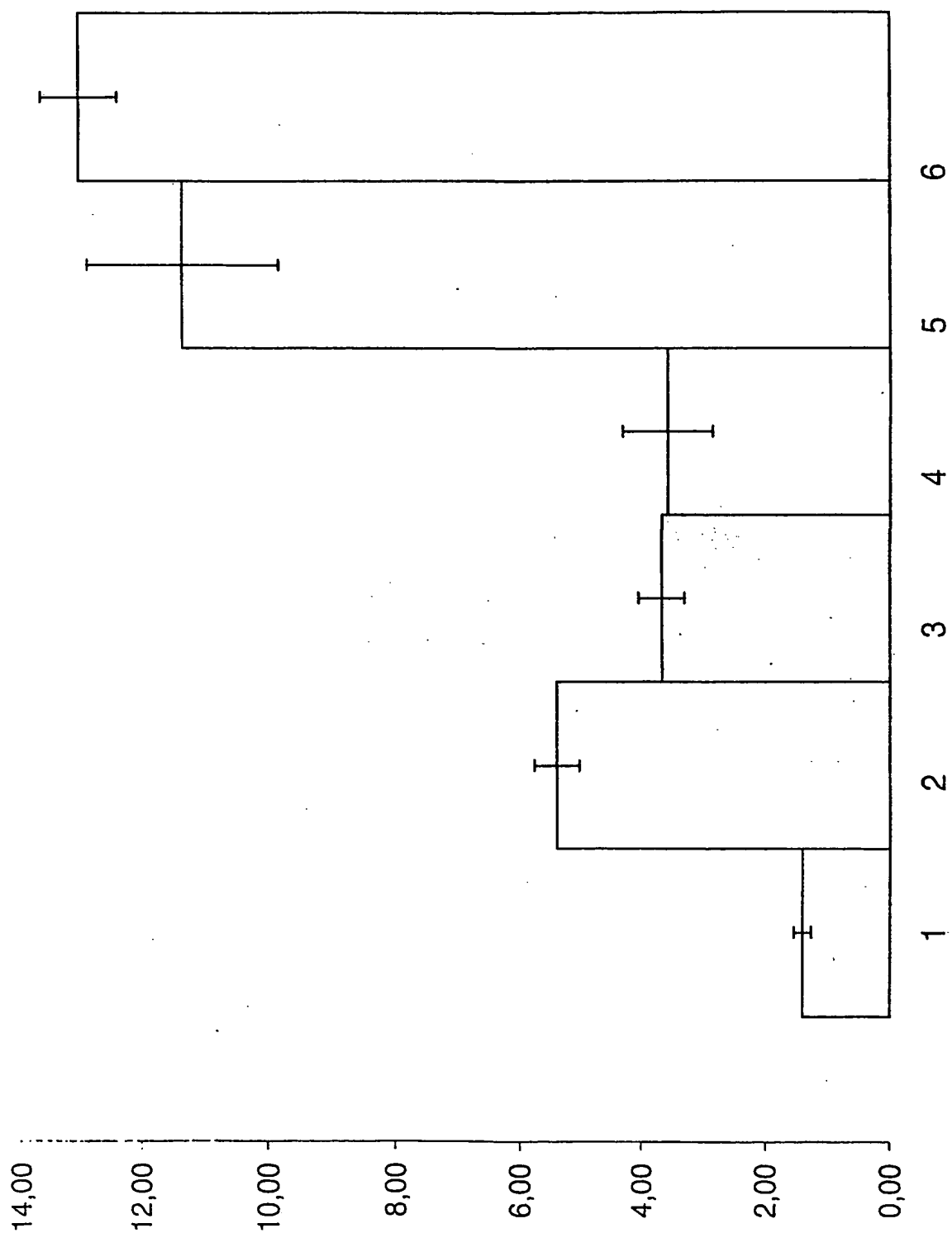


Fig 4

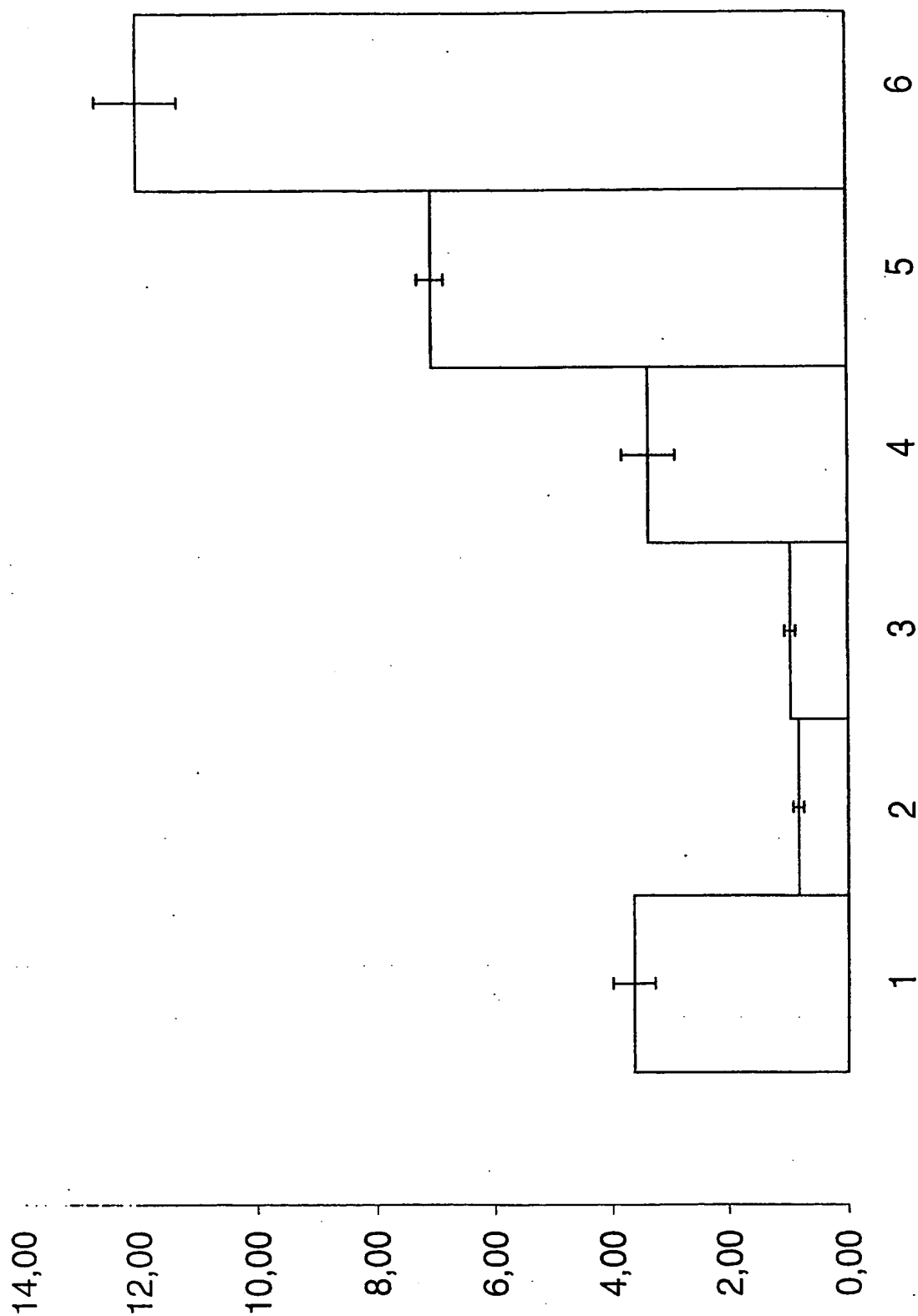


Fig 5

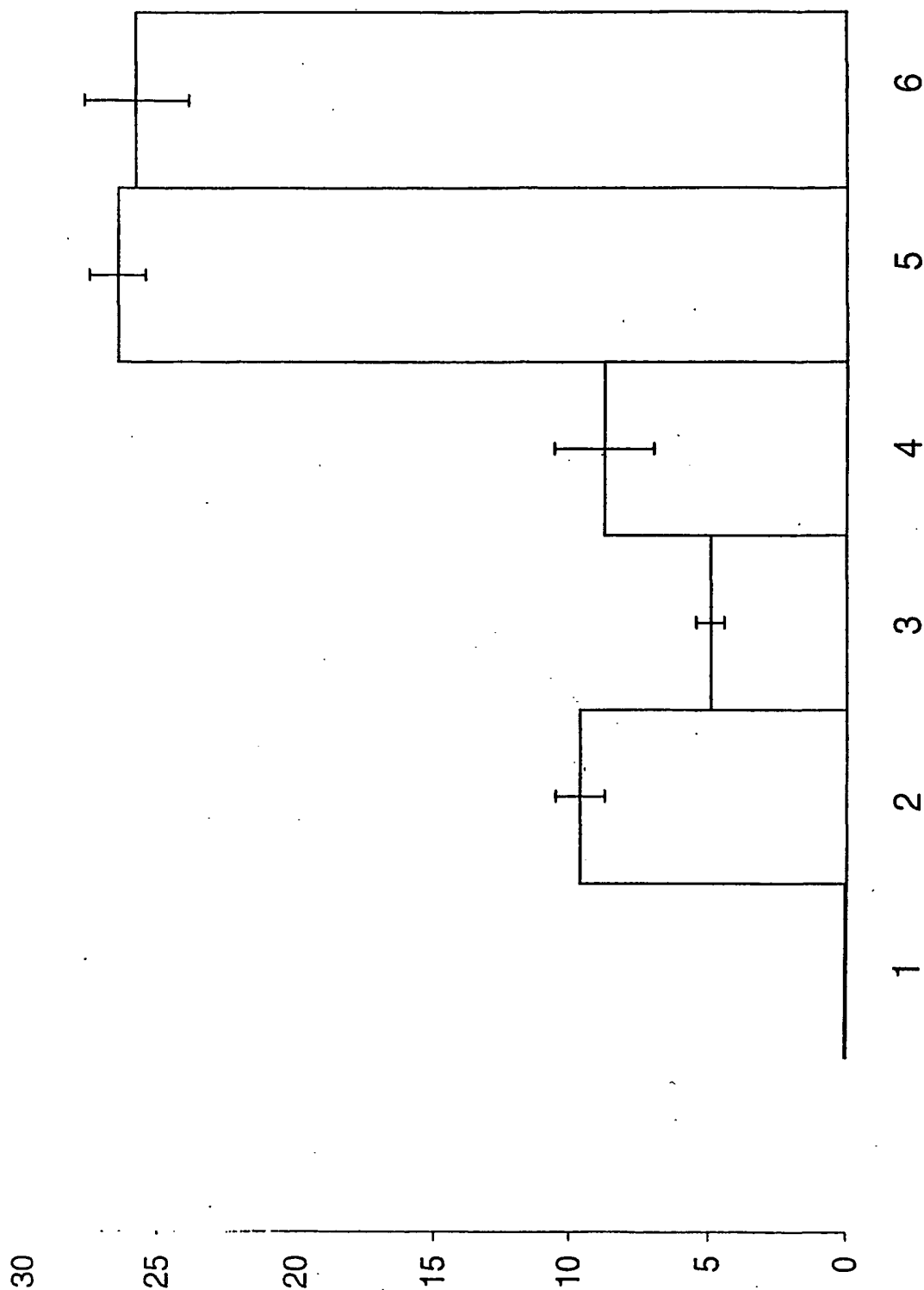


Fig 6

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
31. Januar 2002 (31.01.2002)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 02/08301 A3**

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: **C08F 8/30**,  
C08G 85/00, A61K 31/155

GEHLEN, Arne [DE/DE]; Sonnenstrasse 23, 63743 As-  
chaffenburg (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP01/07666

(74) Anwalt: **FETT, Günter**; CPW GmbH, Kasinostrasse  
19-21, 42103 Wuppertal (DE).

(22) Internationales Anmeldedatum:  
5. Juli 2001 (05.07.2001)

(81) Bestimmungsstaaten (*national*): JP, US.

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(84) Bestimmungsstaaten (*regional*): europäisches Patent (AT,  
BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC,  
NL, PT, SE, TR).

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
100 36 082.3 25. Juli 2000 (25.07.2000) DE

Veröffentlicht:  
— mit internationalem Recherchenbericht

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von  
US): **MEMBRANA GMBH** [DE/DE]; Ohder Strasse 28,  
42289 Wuppertal (DE).

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen  
Recherchenberichts: 23. Mai 2002

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **LEMKE, Horst, Di-  
eter** [DE/DE]; Dr. Kittel Weg 6, 63785 Obernburg (DE).

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen  
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on  
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe  
der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: MODIFIED POLYMERIC SHAPED BODY, METHOD FOR PRODUCING THE SAME AND USE THEREOF

(54) Bezeichnung: MODIFIZIERTER POLYMERER FORMKÖRPER, VERFAHREN ZU SEINER HERSTELLUNG UND  
SEINE VERWENDUNG

(57) Abstract: The invention relates to a modified polymeric shaped body that is producible by reacting diaminoguanidine and/or triaminoguanidine with a polymeric shaped starting body that carries groups R-X, wherein R is an alkylene group having 1 to 3 carbon atoms which is optionally substituted by a hydroxyl group, and X is a group that is substituted during the reaction by diaminoguanidine and/or triaminoguanidine, or with a polymeric shaped starting body that carries groups Y to which diaminoguanidine and/or triaminoguanidine can be added during reaction. The inventive modified polymeric body can be used to remove AGE precursors from blood, plasma or PBS buffer.

(57) Zusammenfassung: Mit einem modifizierten polymeren Formkörper, der herstellbar ist durch Umsetzung von Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin mit einem polymeren Ausgangsformkörper, welcher Reste R-X trägt, wobei R eine gegebenenfalls durch eine Hydroxylgruppe substituierte Alkylengruppe mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen und X eine Gruppe ist, die während der Umsetzung durch Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin substituiert wird oder mit einem polymeren Ausgangsformkörper, welcher Reste Y trägt, an die während der Umsetzung Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin addiert werden, können AGE-Precursor aus Blut, Plasma oder PBS-Puffer entfernt werden.

WO 02/08301 A3



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter d Application No

PC1/EP 01/07666

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C08F8/30 C08G85/00 A61K31/155

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C08F C08G A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

PAJ, WPI Data, EPO-Internal

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 94 19379 A (BRITISH TECHNOLOGY GROUP LTD.) 1 September 1994 (1994-09-01) page 3 -page 4, line 18; claims 1-18 ---	1
A	US 5 994 577 A (S. D. LARSEN) 30 November 1999 (1999-11-30) claims 1,2 ---	1
A	US 5 128 360 A (A. CERAMI) 7 July 1992 (1992-07-07) cited in the application column 7, line 12 - line 30; claims 1-28 ---	1
A	US 4 159 898 A (C. COHEN) 3 July 1979 (1979-07-03) the whole document --- -/--	1



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents:

\*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

\*E\* earlier document but published on or after the international filing date

\*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

\*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

\*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

\*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

\*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

\*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

\*G\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

18 January 2002

Date of mailing of the international search report

31/01/2002

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Permentier, W

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter. Application No.

PC1/E 01/07666

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	GB 1 020 059 A (MONSANTO COMPANY) 16 February 1966 (1966-02-16) claims 1-18 -----	1
A	US 3 950 539 A (H. MILITZER) 13 April 1976 (1976-04-13) claims 1-8 -----	1

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Inter. Application No.

PC1/EP 01/07666

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9419379	A	01-09-1994	AU 692432 B2	11-06-1998
			AU 6009294 A	14-09-1994
			CA 2153151 A1	01-09-1994
			DE 69410995 D1	16-07-1998
			DE 69410995 T2	05-11-1998
			DK 684958 T3	19-10-1998
			EP 0684958 A1	06-12-1995
			EP 0845481 A2	03-06-1998
			WO 9419379 A1	01-09-1994
			GB 2276170 A , B	21-09-1994
			JP 2975688 B2	10-11-1999
			JP 8506846 T	23-07-1996
			US 5698190 A	16-12-1997
			US 5880208 A	09-03-1999
			US 5851518 A	22-12-1998
			US 6132706 A	17-10-2000
US 5994577	A	30-11-1999	AT 205188 T	15-09-2001
			AU 705893 B2	03-06-1999
			AU 4279696 A	17-06-1996
			BR 9509741 A	21-10-1997
			CA 2202265 A1	30-05-1996
			CZ 9701369 A3	18-02-1998
			DE 69522580 D1	11-10-2001
			DE 793646 T1	30-12-1999
			EE 9700094 A	15-10-1997
			EP 0793646 A1	10-09-1997
			FI 972185 A	22-05-1997
			HU 77133 A2	02-03-1998
			JP 10509455 T	14-09-1998
			NO 972346 A	23-07-1997
			PL 320361 A1	29-09-1997
			SK 64097 A3	05-11-1997
			WO 9616031 A1	30-05-1996
			US 6329545 B1	11-12-2001
			US 6166080 A	26-12-2000
US 5128360	A	07-07-1992	US 4665192 A	12-05-1987
			US 5534540 A	09-07-1996
			US 5476849 A	19-12-1995
			US 5468777 A	21-11-1995
			US 5514676 A	07-05-1996
			US 5801200 A	01-09-1998
			US 5733933 A	31-03-1998
			US 5733524 A	31-03-1998
			US 5218001 A	08-06-1993
			US 5238963 A	24-08-1993
			US 5254593 A	19-10-1993
			US 5334617 A	02-08-1994
			US 5272176 A	21-12-1993
			US 5399560 A	21-03-1995
			US 5318982 A	07-06-1994
			US 5358960 A	25-10-1994
			US 5326779 A	05-07-1994
			AT 48998 T	15-01-1990
			AT 97741 T	15-12-1993
			AU 583034 B2	20-04-1989
			AU 4153185 A	11-10-1985

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Inter Application No

PC1/EP 01/07666

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)	Publication date
US 5128360	A		CA	1250587 A1	28-02-1989
		CA	1294218 A1	14-01-1992	
		DE	3574973 D1	01-02-1990	
		DE	3587667 D1	05-01-1994	
		DE	3587667 T2	17-03-1994	
		EP	0175764 A1	02-04-1986	
		EP	0322402 A2	28-06-1989	
		JP	5172813 A	13-07-1993	
		JP	61501706 T	14-08-1986	
		US	5316754 A	31-05-1994	
		WO	8504169 A1	26-09-1985	
		US	4900747 A	13-02-1990	
		US	6114323 A	05-09-2000	
		US	5766856 A	16-06-1998	
		US	RE35465 E	25-02-1997	
		US	5852174 A	22-12-1998	
		US	5612332 A	18-03-1997	
		US	5811075 A	22-09-1998	
		US	5175192 A	29-12-1992	
		US	5128122 A	07-07-1992	
		US	5140048 A	18-08-1992	
		US	5096703 A	17-03-1992	
		US	5100919 A	31-03-1992	
		US	5106877 A	21-04-1992	
		US	5114943 A	19-05-1992	
		US	5258381 A	02-11-1993	
		US	5130324 A	14-07-1992	
		US	5130337 A	14-07-1992	
		US	5585344 A	17-12-1996	
		US 4159898	A	03-07-1979	FR
BE	833053 A1				04-03-1976
DE	2539381 A1				18-03-1976
IT	1042438 B				30-01-1980
NL	7510639 A				12-03-1976
US	4071459 A				31-01-1978
US	4113637 A				12-09-1978
GB 1020059	A	16-02-1966	GB	998869 A	
US 3950539	A	13-04-1976	DE	2408289 A1	11-09-1975
			AU	7835575 A	19-08-1976
			BE	825805 A1	21-08-1975
			DD	117874 A5	05-02-1976
			DK	63875 A	20-10-1975
			ES	434772 A1	01-02-1977
			ES	445528 A1	16-06-1977
			ES	445529 A1	16-06-1977
			FI	750462 A	22-08-1975
			FR	2261759 A1	19-09-1975
			IT	1037155 B	10-11-1979
			JP	50117740 A	16-09-1975
			LU	71885 A1	05-01-1977
			NL	7501756 A	25-08-1975
			NO	750557 A	22-08-1975
			SE	7501972 A	22-08-1975
			ZA	7501074 A	28-01-1976

## A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 C08F8/30 C08G85/00 A61K31/155

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RESEARCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C08F C08G A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

PAJ, WPI Data, EPO-Internal

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	WO 94 19379 A (BRITISH TECHNOLOGY GROUP LTD.) 1. September 1994 (1994-09-01) Seite 3 -Seite 4, Zeile 18; Ansprüche 1-18 ---	1
A	US 5 994 577 A (S. D. LARSEN) 30. November 1999 (1999-11-30) Ansprüche 1,2 ---	1
A	US 5 128 360 A (A. CERAMI) 7. Juli 1992 (1992-07-07) in der Anmeldung erwähnt Spalte 7, Zeile 12 - Zeile 30; Ansprüche 1-28 ---	1
A	US 4 159 898 A (C. COHEN) 3. Juli 1979 (1979-07-03) das ganze Dokument ---	1
	--- -/-	

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen☒ Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

\*A\* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

\*E\* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

\*L\* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

\*O\* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

\*P\* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

\*T\* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

\*X\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

\*Y\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

\*Z\* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

18. Januar 2002

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

31/01/2002

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Permentier, W

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Beitr. Anspruch Nr.
A	GB 1 020 059 A (MONSANTO COMPANY) 16. Februar 1966 (1966-02-16) Ansprüche 1-18 -----	1
A	US 3 950 539 A (H. MILITZER) 13. April 1976 (1976-04-13) Ansprüche 1-8 -----	1

# INTERNATIONALER RESEARCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichung, die zur selben Patentfamilie gehören

Interne Kennzeichen

PC1/EP-01/07666

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9419379 A	01-09-1994	AU 692432 B2	11-06-1998
		AU 6009294 A	14-09-1994
		CA 2153151 A1	01-09-1994
		DE 69410995 D1	16-07-1998
		DE 69410995 T2	05-11-1998
		DK 684958 T3	19-10-1998
		EP 0684958 A1	06-12-1995
		EP 0845481 A2	03-06-1998
		WO 9419379 A1	01-09-1994
		GB 2276170 A ,B	21-09-1994
		JP 2975688 B2	10-11-1999
		JP 8506846 T	23-07-1996
		US 5698190 A	16-12-1997
		US 5880208 A	09-03-1999
		US 5851518 A	22-12-1998
		US 6132706 A	17-10-2000
US 5994577 A	30-11-1999	AT 205188 T	15-09-2001
		AU 705893 B2	03-06-1999
		AU 4279696 A	17-06-1996
		BR 9509741 A	21-10-1997
		CA 2202265 A1	30-05-1996
		CZ 9701369 A3	18-02-1998
		DE 69522580 D1	11-10-2001
		DE 793646 T1	30-12-1999
		EE 9700094 A	15-10-1997
		EP 0793646 A1	10-09-1997
		FI 972185 A	22-05-1997
		HU 771133 A2	02-03-1998
		JP 10509455 T	14-09-1998
		NO 972346 A	23-07-1997
		PL 320361 A1	29-09-1997
		SK 64097 A3	05-11-1997
		WO 9616031 A1	30-05-1996
		US 6329545 B1	11-12-2001
		US 6166080 A	26-12-2000
US 5128360 A	07-07-1992	US 4665192 A	12-05-1987
		US 5534540 A	09-07-1996
		US 5476849 A	19-12-1995
		US 5468777 A	21-11-1995
		US 5514676 A	07-05-1996
		US 5801200 A	01-09-1998
		US 5733933 A	31-03-1998
		US 5733524 A	31-03-1998
		US 5218001 A	08-06-1993
		US 5238963 A	24-08-1993
		US 5254593 A	19-10-1993
		US 5334617 A	02-08-1994
		US 5272176 A	21-12-1993
		US 5399560 A	21-03-1995
		US 5318982 A	07-06-1994
		US 5358960 A	25-10-1994
		US 5326779 A	05-07-1994
		AT 48998 T	15-01-1990
		AT 97741 T	15-12-1993
		AU 583034 B2	20-04-1989
		AU 4153185 A	11-10-1985

## INTERNATIONALER RESEARCHBERICHT

Angaben zu Veröffentlichung, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationale Patentzeichen

PCT/EP 01/07666

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 5128360 A		CA 1250587 A1	28-02-1989
		CA 1294218 A1	14-01-1992
		DE 3574973 D1	01-02-1990
		DE 3587667 D1	05-01-1994
		DE 3587667 T2	17-03-1994
		EP 0175764 A1	02-04-1986
		EP 0322402 A2	28-06-1989
		JP 5172813 A	13-07-1993
		JP 61501706 T	14-08-1986
		US 5316754 A	31-05-1994
		WO 8504169 A1	26-09-1985
		US 4900747 A	13-02-1990
		US 6114323 A	05-09-2000
		US 5766856 A	16-06-1998
		US RE35465 E	25-02-1997
		US 5852174 A	22-12-1998
		US 5612332 A	18-03-1997
		US 5811075 A	22-09-1998
		US 5175192 A	29-12-1992
		US 5128122 A	07-07-1992
		US 5140048 A	18-08-1992
		US 5096703 A	17-03-1992
		US 5100919 A	31-03-1992
		US 5106877 A	21-04-1992
		US 5114943 A	19-05-1992
		US 5258381 A	02-11-1993
		US 5130324 A	14-07-1992
		US 5130337 A	14-07-1992
		US 5585344 A	17-12-1996
US 4159898 A	03-07-1979	FR 2284601 A1	09-04-1976
		BE 833053 A1	04-03-1976
		DE 2539381 A1	18-03-1976
		IT 1042438 B	30-01-1980
		NL 7510639 A	12-03-1976
		US 4071459 A	31-01-1978
		US 4113637 A	12-09-1978
GB 1020059 A	16-02-1966	GB 998869 A	
US 3950539 A	13-04-1976	DE 2408289 A1	11-09-1975
		AU 7835575 A	19-08-1976
		BE 825805 A1	21-08-1975
		DD 117874 A5	05-02-1976
		DK 63875 A	20-10-1975
		ES 434772 A1	01-02-1977
		ES 445528 A1	16-06-1977
		ES 445529 A1	16-06-1977
		FI 750462 A	22-08-1975
		FR 2261759 A1	19-09-1975
		IT 1037155 B	10-11-1979
		JP 50117740 A	16-09-1975
		LU 71885 A1	05-01-1977
		NL 7501756 A	25-08-1975
		NO 750557 A	22-08-1975
		SE 7501972 A	22-08-1975
		ZA 7501074 A	28-01-1976